



TITLE:

Circulating extracellular histones are clinically relevant mediators of multiple organ injury( Abstract\_要旨 )

AUTHOR(S):

Kawai, Chihiro

---

CITATION:

Kawai, Chihiro. Circulating extracellular histones are clinically relevant mediators of multiple organ injury. 京都大学, 2016, 博士(医学)

ISSUE DATE:

2016-03-23

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k19583>

RIGHT:

学位規則第9条第2項により要約公開

京都大学	博士（ 医 学 ）	氏 名	川 合 千 裕
論文題目	Circulating extracellular histones are clinically relevant mediators of multiple organ injury (血中細胞外ヒストンは臨床的意義のある多臓器障害メディエーターである)		
<p>【背景】細胞が障害された時に放出され、自然免疫による炎症を惹起する自己由来の分子を DAMPs（damage-associated molecular patterns）と呼ぶ。ヒストンは DAMPs の 1 つで、敗血症や重症外傷時の急性肺障害などの誘発因子として近年注目されており、血中に放出されると多臓器障害をきたす可能性もある。しかし、これまでの研究では個々の臓器での障害機序の解明が主体であった。そこで、本研究ではヒストンが多臓器障害をきたす機序についてマウスを用いて検討した。また、抗ヒストン作用が期待される物質の臨床応用への可能性もマウスにより検証した。</p> <p>【方法】精製ヒストンを C57BL/6 マウスに静脈投与し、肺、肝、腎障害の投与量反応性および経時的変化を検討した。投与量反応性の検討では個体の生存率や、各臓器の病理学的変化と障害マーカーの変化を検索した。経時的変化の検討では上記検査に加えて、免疫組織化学的、超微細構造学的検査、内皮障害関連マーカーや別の DAMPs である HMGB1（high-mobility group protein box 1）の血中濃度、そして各種遺伝子の発現量について検討した。また、抗ヒストン作用をもつヘパリン、アルブミンや抗 HMGB1 抗体を投与し、その多臓器障害抑制の効果を検証した。</p> <p>【結果】ヒストンの投与量に依存して生存率および肺、肝、腎障害のいずれもが増悪した。肺では少量投与で好中球浸潤が出現し始め、高用量になると高度肺水腫を引き起こした。一方、肝では肺や腎に比し低用量のヒストン投与では障害は誘発されなかった。経時的変化は、肺、肝ではヒストン投与直後から組織障害が出現し、肺で 1 時間、肝で 4 時間、腎で 16 時間後に障害のピークがみられた。また、肺や肝では投与直後の内皮細胞表面へのヒストン接着を伴う内皮細胞壊死と <i>Vegfr2</i> の mRNA 発現量増加を認めた。そこで、電荷によりヒストンと結合するとされるヘパリンおよびアルブミンを投与したところ、ヘパリンはヒストンの内皮細胞への接着を阻害することで内皮細胞障害を抑制し、生存率と各臓器障害を改善した。しかし、アルブミン投与ではヒストンの内皮細胞接着の阻害が起こらず肝障害が増悪した。また、経時的な免疫組織化学検査および ELISA 検査により、各臓器の HMGB1 はヒストン投与直後から各細胞の核から消失し、血中に放出されていることが確認された。そこで、この HMGB1 に対する中和抗体を投与したところヒストン投与 16 時間後での肝および腎の障害が抑制された。</p> <p>【結論】本研究では、細胞外ヒストンは早期に内皮細胞障害を介して多臓器障害を惹起すること、そして臓器間で障害の強さや発生時期が異なることが明らかとなった。また、細胞外ヒストンで障害された組織から二次的に放出された他の DAMPs（HMGB1）がさらなる臓器障害を引き起こし、多臓器障害の増悪機序の一端となることが示された。さらに、ヘパリンはヒストンの内皮接着を阻害して早期の臓器障害を抑制すること、また抗 HMGB1 抗体は二次的に放出された DAMPs による炎症反応を阻害することで多臓器障害後期の悪循環を抑制しうることが明らかとなった。このような各臓器の DAMPs に対する脆弱性や障害発生時期が異なることを念頭におけば、ヒトの多臓器障害においても、その正確な病態理解、診断、新たな治療法の確立に繋がると考えられた。</p>			

（論文審査の結果の要旨）
細胞が障害された時に放出され、自然免疫による炎症を惹起する自己由来の分子を DAMPs（damage-associated molecular patterns）と呼ぶ。ヒストンも DAMPs の 1 つで、血中に放出されると多臓器障害をきたす可能性が指摘されていたが、これまでの研究は単に個々の臓器障害機序の解明に留まっていた。そこで申請者らはマウスにヒストンを経静脈的に投与することで、多臓器障害の病態および抗ヒストン作用が期待される薬剤の効果について検討した。その結果、ヒストンによる障害の程度や出現時期が臓器間で異なることが分かった。障害機序としては早期に組織障害を示す肺や肝ではヒストンによる直接的な内皮障害で臓器障害が惹起されること、後期に障害を起こす腎ではヒストンで障害された組織から二次的に DAMPs として放出された HMGB1（high-mobility group protein box 1）によって障害されることが示された。またこの時ヘパリンがヒストンの内皮接着を阻止して早期の臓器障害を抑制すること、さらに抗 HMGB1 抗体が後期障害を抑制する事が明らかになり、多臓器障害の悪循環を抑制しうる治療法につながる可能性が示唆された。
以上の研究は、細胞外に放出されたヒストンによる臓器障害の機序の解明に貢献するだけでなく、多臓器障害の病態研究の発展や新規治療法の開発に寄与するところが多い。
したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。
なお、本学位授与申請者は、平成 2 8 年 2 月 4 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。